

〔駒沢女子大学 研究紀要 第18号 p.295 ~ 305 2011〕

女性に多い致死性不整脈の発生メカニズムに関する考察

川 野 誠 子*

Gender Differences in Molecular and Cellular Mechanisms of Ventricular Arrhythmias

Seiko KAWANO*

Gender-based differences are familiar in cardiac arrhythmias, such as the incidence rates of congenital long-QT syndrome and drug induced Torsades de pointes (TDP). Although gonadal steroids are supposed to play an important role in the gender-based differences in cardiac electrophysiological properties, the underlying mechanisms are not fully understood. In this study, we examined the effects of the female sex hormone on the human ether-a-go-go-related gene (hERG)-encoded potassium current, which comprises the repolarization phase of the action potential. We found that hERG currents are significantly blocked by β -estradiol and these blocking effects are enhanced by the simultaneous application of erythromycin. From these results we conclude that the sex hormone directly affects the phase 2 repolarization and synergic effects of β -estradiol and erythromycin indicate a higher risk of drug-induced TDP in women than men.

1. はじめに

人間の生命を脅かす病態のひとつである心臓の致死性不整脈はその成因や病因の研究は非常に盛んであり、この20年間で数多くの知見が蓄積され目覚ましい進展をみてきた^(1, 2, 3)。現在では不整脈の発生機序が分子・遺伝子レベルで解明され画期的な治療法も開発されている。しかし、不整脈に関してその全容が明らかになった訳ではなく、未だ科学的に解明されていない事実や謎は数多く残っている。謎のひとつに、致死性不整脈は男性・女性の性別によりその発生率が異なることが挙げられる。同じ人間なのになぜ性別により不整脈の発生が異なるのか？

この疑問を解明するための研究がこれまでに盛んになされ数多くの論文や総説が発表されているにもかかわらず、未だその詳細は不明な点が多い⁽⁴⁾。本論文では「致死性不整脈発生が何故性差によって異なるのか？」を明らかにするために、我々のこれまでの研究成果と既発表の論文に基づいて考察することを目的とした。

2. 性差による不整脈発症の違い

心臓の病的な不整脈はその発生頻度が性別により異なることが現在までの研究で判明している。例えば安静時の心拍数は女性の方が男性より早く、また洞性頻拍、発作性上室性頻拍、房室結

*人間健康学部 健康栄養学科

節性リエントリー頻拍、突発性右室起源心室頻拍なども女性の発生頻度が男性より高い。そしてQT延長症候群を原因として発生する致死性不整脈は男性より女性に多く認められることが報告されている^(3, 5, 6)。一方、男性は完全房室ブロック、心房細動、WPW症候群、リエントリー性心室頻拍や心室細動や突然死の発症が多く、Brugada症候群も男性の方が女性より症例が多い。このように不整脈の種類によってその発生頻度に性差があることが臨床研究により明らかにされてきた。

致死性不整脈の原因疾患のひとつであるQT延長症候群（Long QT syndrome：LQTS）はその発症が男性より女性に多いことが良く知られている。QT延長症候群とは特に器質的心疾患を認めないにも関わらず心電図上QT時間の延長という異常所見を呈する症例を呼ぶが、臨床的にはTorsade de pointes（TDP）と呼ばれる心室頻拍を引きおこし突然死をもたらす非常に危険な疾患である。この症候群には先天性と後天性があり、先天性QT延長症候群としてはRomano-Ward症候群とJervell and Lange-Nielsen症候群（先天性聾を伴う）が知られている。日本における先天性QT延長症候群の研究は古く、1978年に発表された橋場氏の論文によると⁽⁷⁾ Romano-Ward症候群とJervell and Lange-Nielsen症候群の症例189名を集め検討した結果、その男女比は24%：76%で女性が圧倒的に多かった。そのうち突然死した6症例のうち5例は女性であり、また失神発作のエピソードを呈した40名の症例の内訳も女性が80%であったと報告している。これらの症例で突然死や失神発作の臨床症状の発症する割合は男性28%、女性42%であることが示されている。以上の臨床研究結果は日本に於いても先天性QT延長症候群の症例及びそれに関連する致死性不整脈の発症は女性に多いことを示している。近

年の研究では女性の先天性QT延長症候群は遺伝子の変異または異常のために発症することが判明し、そのうちLQT1とLQT2の変異を持っている女性は突然死のリスクが高いことが解ってきた⁽²⁾。

一方、後天性QT延長症候群は、通常的心電図ではQT時間は正常であるにも関わらず、薬剤等の投与によりQT時間が延長するものであり、この場合も致死性不整脈であるTDPが誘発される。この病態を引きおこす薬剤としては抗不整脈薬、抗ヒスタミン薬とマクロライド系抗生物質の併用等が良く知られている。しかも、この薬剤誘発性後天性TDPではその病態は女性の方が男性より重篤な不整脈の発生リスクが高いことが知られている。その原因としてはこれらの薬剤が心筋のイオンチャネルへ直接作用するためと考えられているが、何故性差が認められるのか性ホルモンの関与が推測されているにも関わらずその詳細は未だ不明である^(4, 8, 9)。

3. 正常心電図所見に認められる男女差

正常心電図の所見においても男女間に差があることがBazett⁽¹⁰⁾により提唱され、現在までこれを支持する数多くの研究成果が報告されている⁽³⁾。例えば（Ⅰ）P波とP-R間隔は男性の方が女性より長い。（Ⅱ）心拍数は女性の方がやや早い。（Ⅲ）QTcは女性の方が僅かではあるが男性より有意に長いとされている⁽¹⁰⁾。心拍数に関しては安静時では女性の方が男性より早いことが判明しているが、その成因としてはいくつか仮説があり、洞結節自体の機能に男女では差があり自律神経による調節効果が異なるという説、洞結節機能の差よりむしろ運動能力に男女では差がある為に心拍数に影響が出ているという説等が提唱されている。注目されることは女性では生理の周期によって安静時の心拍数が異なるという事実が判明し、性ホルモンが心

拍数に影響を与えている可能性が示唆されている^(11, 12)。特に女性ホルモンであるエストロゲンが自律神経に影響を与える結果、心拍数を調節しているという報告があるが、やはりその詳細なメカニズムに関しては不明である^(13, 14)。

心拍数補正 QT 時間や T 波の形状にも男女差が認められ、例えば、QTc は女性の方が長くまた QT : RR 関係であらわした T 波形の形状は女性の方がより鋭いとされている。さらに、心室筋の再分極相の形成過程にも差が認められる⁽³⁾。T 波の形状にも違いが認められ、即ち、T 波の上昇、下降のスロープ、T 波のピークから終わりまでの時間等は男性の方がより鋭くなっている^(3, 6)。

心室筋の再分極過程の不均一性は致死性不整脈誘発の原因であることが良く知られているが、心電図波形による検討では心室の再分極過程の不均一性は男性より女性の方が大きいことが示されている⁽¹⁵⁾。一般に心室筋の筋層の部位によって再分極過程は不均一であり、その不均一性の程度が男女によって異なるのではないかと推測されている⁽¹⁶⁾。日本人に於ける検討でも同様の結果が報告されている⁽¹⁷⁾。このような心筋の電気生理学的特性の性差による違いは思春期以前の子供には認められないことや^(18, 19)、病気や事故で性ホルモンの分泌が抑制された症例や病気の治療として性ホルモンの投与を受けている症例等の検討の結果から総合的に判断して、恐らく男性ホルモン (testosterone) が心室の再分極過程に何等かの影響を与えているのではないかと推測されている⁽²⁰⁾。これまでの電気生理学的研究によるとエストロゲンが QT 間隔を延長しテストステロンが短縮させると報告されている⁽⁶⁾。動物実験による細胞生理学的検討でも、女性の心筋細胞の活動電位の再分極相が男性のものより長いことが示されている^(6, 21, 22)。

4. 心筋細胞の電気生理学的特性

致死性不整脈発生のメカニズムを考えるに当たって心筋細胞の電気生理学的特性の理解が重要である。近年この分野の研究はイオンチャネルの分子・遺伝子レベルでの機能解析から多くの成果が得られ著しい発展をみている⁽¹⁾。基本的には、心臓の電気現象は心筋細胞が活動電位を発生しそれが心臓全体に伝播することにより成り立っているが、その活動電位は心筋細胞に発現している多種類のイオンチャネルが開閉しそこをイオン電流が流れることにより形成される。特に活動電位の再分極相は致死性不整脈の発生に非常に重要な役割を果たしているためこの再分極相を形成するチャネルの機能が注目されている。再分極に寄与する主な電流には、一過性外向き電流 (I_{to})、L 型カルシウム電流 (I_{CaL})、遅延整流電流 (I_{KS})、内向き整流電流 (I_{KI})、超速遅延整流 (I_{Kur})、その他、 Na^+/Ca^{2+} 交換機構、 I_{pNa} 、アセチルコリン活性化 K 電流 ($I_{K,ACh}$) が活動電位の再分極相の第二相形成に関与している⁽³⁾。

5. 不整脈発生の機序としてイオンチャネルの機能調節

心筋活動電位の再分極相の形成には図 1 に示すように数多くの K チャネルが関与しているが、これらのチャネルの機能異常が不整脈発生に非常に重要な役割を果たすことが解ってきた。性差による不整脈発生のメカニズム解明においても、K チャネルに対する性ホルモンの直接作用やチャネル蛋白をコードする遺伝子に対する作用等が検討され注目されている^(22, 23, 24)。それらによると、E2 エストロゲンは K チャネルの活性化や発現を増強する作用があること、電位依存性 K チャネル ($K_{V1.5}$ and I_{Kur}) の発現は男性ホルモンにより調節されており女性より男性に多く発現していること等が明らかにされた。

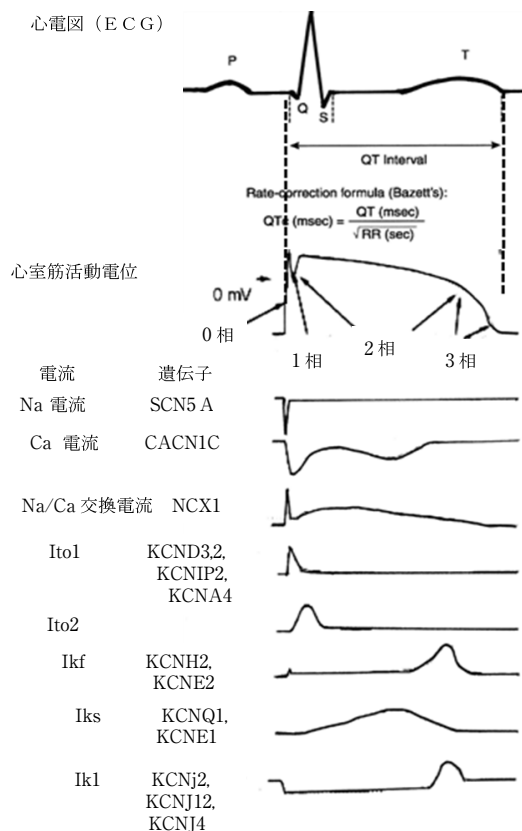


図1 心電図波形と心室筋の活動電位波形、及びそれを形成するイオン電流、イオンチャネル（3を参考）。心電図波形と心筋細胞の活動電位を並べてある。活動電位の各相を形成する電流をそのタイミングに合わせて重ねた。各電流をもたらしチャネルの遺伝子を挙げてある。

また、マウスの実験では KCNE1 の発現は女性の方が2-3倍多いことが示されている^(21, 22)。動物実験では I_{K1} の電流密度は女性の方が男性より低いと報告されている。細胞生理学的には心筋細胞には性ホルモン受容体が存在しチャネル遺伝子の発現を調節している。エストロゲンは slow K Channel の mRNA の発現を調節し、また心筋の Ca チャネルの発現も調節すると推測されている。そして L 型 Ca 電流は早期後期脱分極 (EAD) の誘発に関与しているとされているが、 I_{Kr} がブロックされると心室筋層

の再分極相が不均一となり、より一層 EAD が発生しやすくなることが解ってきた⁽²⁴⁾。薬剤誘発性不整脈の誘発についての検討では、 I_{Kr} を抑制する薬は APD90 (活動電位90%再分極) を著明に延長し EAD が誘発されやすくなるために TDP 等の致死性不整脈が誘発されるが、この病態も男女間に差が認められている。その違いの機序としては女性の方が心室の再分極過程の不均一性がより高度であるために致死性不整脈である TDP が誘発されやすくなっていると説明されている。しかし、性ホルモンであるアンドロゲン、プロゲステロン、エストロゲン等が心筋のイオンチャネルにどのように作用しているかを電気生理学的に解析した研究は非常に少なくその詳細な機序は未だ解明されていない⁽⁴⁾。

6. hERG 電流に対する女性ホルモンと薬剤の効果の検討

以上述べたように、心筋の K 電流の中でも I_{Kr} は再分極相の形成に非常に重要な働きをしており、この電流が抑制されると TDP が誘発されることが確認されているが、その性差の機序として I_{Kr} が性ホルモンによってどのような調節を受けているか未だ解明されていない。そこで、我々は女性ホルモンである β -estradiol が I_{Kr} に対して直接作用を有するか否かを明らかにするための検討を行った。 I_{Kr} のチャネルをコードするヒトの遺伝子 ether-a-go-go-related gene (hERG) をヒト胎児腎細胞に発現させて、パッチクランプ法により全細胞膜電流を記録して電気生理学的解析により検討した^(25, 26)。

方法：ヒト胎児の腎細胞 (HEK-293細胞) に hERG チャネル遺伝子を発現させ以下の溶液 (Dulbecco's modified Eagle medium, 10% fetal bovine serum and antibiotics at 37°C, in a humidified atmosphere of 95% and 5% CO_2) で培養した。

電気生理学的検討：HEK-293細胞膜に発現している I_{Kr} の電気生理学的機能解析はパッチクランプ法を用い、単一細胞全膜電流記録を電圧固定により行った。実験機器としては、Axopatch 2Aを用い解析ソフト pCLAMP8 (Axon Instruments, Foster City, CA) で電流解析を行った^(25, 26)。データー収集は10 KHzで行い Bessel 型 (octave attenuation, 48 dB) の low-pass-filtered を用いて1 KHzでフィルターしてコンピューター (Dell VZ-6000; Epson, Tokyo, Japan) にて解析した。細胞内液、細胞外液の組成は以下のとおりである (細胞外液：NaCl, 137 mM; KCl, 4 mM; CaCl₂, 1.8 mM; MgCl₂, 1mM; HEPES, 10 mM で pH は NaOH を用いて7.4に調節した。細胞内液：KCl, 130 mM; MgCl₂, 1 mM; EGTA, 5 mM; MgATP, 5 mM; HEPES, 10 mM で pH は KOH を用いて7.2に合わせた。統計学的処理：得られたデーターは mean \pm SD 又は SE で表してい

る。Student's paired t-test 又は unpaired t-test の検証により $P < 0.05$ を有意差とした。

「結果」

6-1 hERG 電流に対する β -estradiol の直接抑制作用

hERG 電流の計測は我々の既発表^(25, 27, 28) と同様の方法で行い、 -80 mV の保持電位から -10 mV まで10 mV 毎のステップパルスを0.25 Hzの頻度で与えて誘発した (図2)。 β -estradiol の作用を検証するために種々の濃度 (300 nM から3 mM 迄) を用いて検討した結果、低濃度では I_{Kr} に対する作用は僅かであったがより高濃度の30 μ M 以上では明らかにこの電流を抑制することが判明した。各濃度での実験結果をまとめたものが図3である。この図に示すように β -estradiol の効果は濃度が高いほど強く、濃度依存性抑制である事が判明した。その IC_{50} は1.3 μ M、Hill coefficient は0.87であった。次に

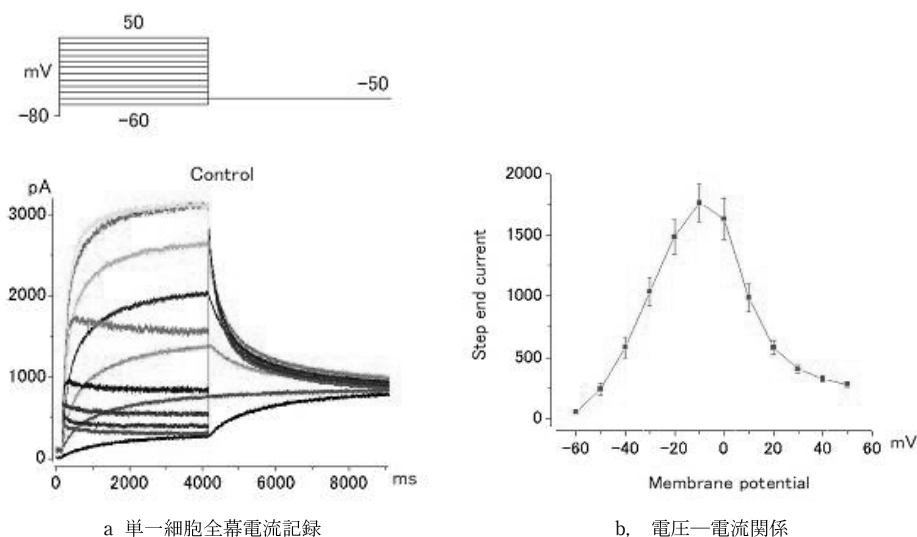


図2 単一細胞の膜電流で hERG 電流を記録。

a, 上段は与えたステップパルスを記載。下段は各電位での膜電流を重ねたものである。 -80 mV の保持電位から -60 から $+50$ mV へ4秒間の脱分極パルスを10 mV 間隔で与えて -50 mV へ再分極させた時の膜電流記録である。パルスは0.1 Hz の間隔で与えてある。b, 電圧—電流関係。横軸に脱分極パルスを縦軸に脱分極4秒後の電流の値をプロットしてある (pA)。電流—電圧曲線はベル型を呈し典型的な I_{Kr} の特徴を示している。

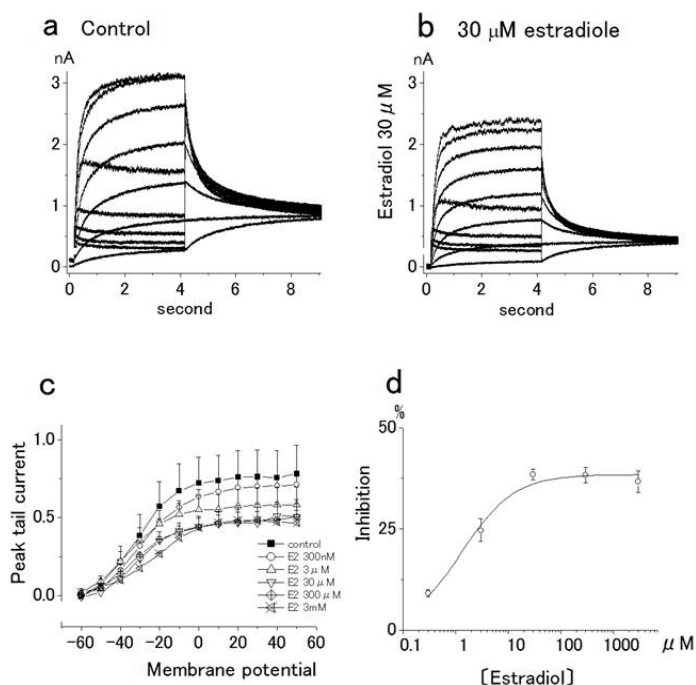


図3 hERG 電流に対するエストラジオールの効果。図2と同様の方法で膜電流を記録し、hERG 電流に対する女性ホルモンの効果を検討した。a, コントロール、b, 30 μ M エストロジオール投与後6分後、c, 種々の濃度のエストラジオール投与後の末尾電流解析の解析。コントロール (■)、300 nM (○)、3 μ M (Δ)、30 μ M (∇)、300 μ M (\diamond)、3 mM (\times)。データは其々の濃度で5-8実験よりノーマライズして求めた。d, 濃度依存性曲線。IC₅₀は1.3 μ M で Hill coefficient は0.87であった。

β -estradiol の I_{Kr} 抑制効果の特性を検討した。まず、電位依存性ブロックに関しては各電位での薬剤の効果を末尾電流を解析して、Boltzmann の式にフィットさせて検討した。

$$I/I_{\max} - 1 / \{1 - \exp[(V1/2 - V_m)/S]\}$$

図4に示す如く1/2最大活性化電位 (V1/2) とスロープファクター (S) の値は種々の濃度の β -Estradiol ではほぼ同一であった事より電位依存性抑制はないと結論した。さらに、使用依存性ブロック効果の有無を検討したが β -estradiol の抑制効果には使用依存性は認められなかった (図4d)。このように I_{Kr} は女性ホルモンによって直接チャネル機能が抑制される事が確認されたので、次にこの電流を抑制する抗生物質のエリスロマイシンの投与下で女性ホルモンの作用がどのように修飾されるかを検討した。

6-2 エストラジオールとエリスロマイシンの効果

これまでの報告によりマクロライド系の薬剤はQTを延長し心室性不整脈を誘発することがよく知られておりその機序としてhERG電流がマクロライド系抗生物質により濃度依存性に抑制されるためと考えられている^(29, 30, 31)。またこれに関係する致死性不整脈の発生は男性より女性の方が多いことから⁽³²⁾我々は女性ホルモンがマクロライドの効果を修飾しているのではないかと仮説を立て、その検証のためにエリスロマイシンとエストラジオールを同時に投与してhERG電流への効果を検討した。まず、エリスロマイシン単独投与の効果を見たが10 μ MではhERG電流は全く影響を受けなかった。そこで、この濃度のエリスロマイシンと種々の

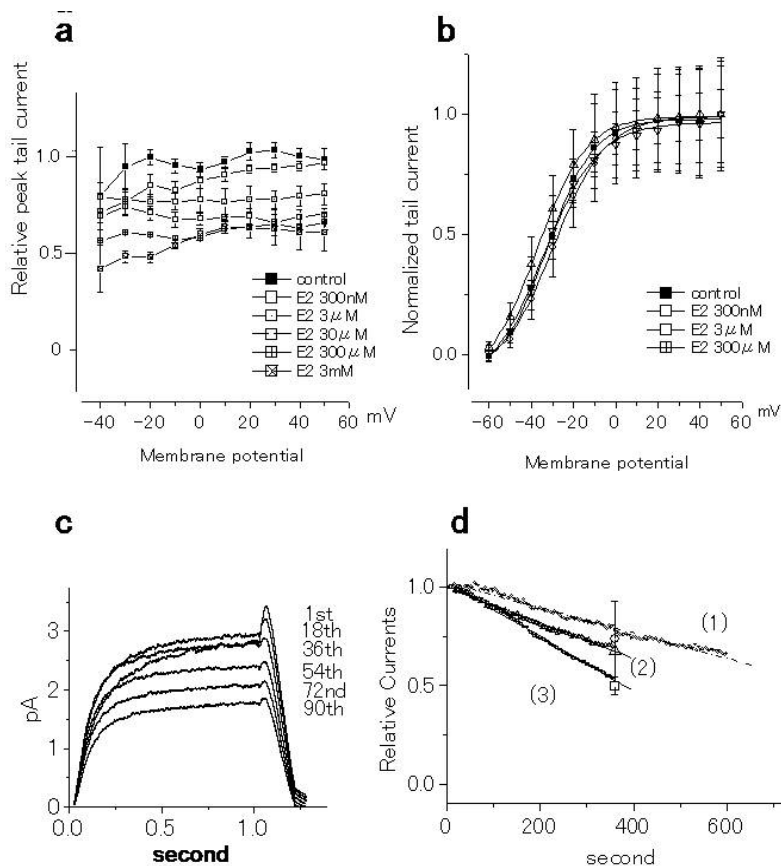


図4 β -estradiol の抑制特性。a, 種々の濃度で検討した最終電流値。b, 電位依存性活性化曲線をコントロール、エストラジオールの各濃度 (300 nM, 3 μ M, 300 μ M) で求めた。曲線は Boltzmann function でフィットさせてある。c, 30 μ M のエストラジオール存在下で -80 mV の保持電位から -10 mV への脱分極パルスで 1 秒間 0.25 Hz で与えて記録した hERG 電流を重ねたものである。連続 90 回の刺激を与えその時の電流を重ねた。d, c の方法で得られた電流値を測定した。(1) はコントロール、(2) は 300 nM エストラジオール、(3) は 30 μ M エストラジオールで各々 7 つの実験結果を (mean \pm SE) で求めた。

濃度のエストラジオールを同時に与えた時の効果を検討した。図 5 に示すごとく両者の同時投与では、低濃度 (300 nM) のエストラジオールが hERG 電流を著明に抑制することが判明した。両者の薬を同時に投与した場合、末尾電流で計測するとその値は平均で $45.8 \pm 9.8\%$ ($n=4-7$ cells) に減少していた。この結果は両薬剤の同時投与により相乗効果がもたらされたと考えられる。さらに、種々の濃度 (30 nM - 3 μ M) のエストラジオールと 10 μ M エリス

ロマイシンの同時投与の実験を行った結果、エリスロマイシンとの併用によりエストラジオールの hERG 電流抑制効果は濃度依存性に強くなることが示された。図 6 に示すごとく、エストラジオールの抑制効果の IC_{50} はエリスロマイシンとの併用により 1.3 μ M から 59 nM へと著しく低濃度へシフトし、かつ抑制効果は $45.8 \pm 9.8\%$ ($n=7$ cells) へ増強した。

以上の結果をまとめると、低濃度のエリスロマイシンやエストラジオールは単独投与では

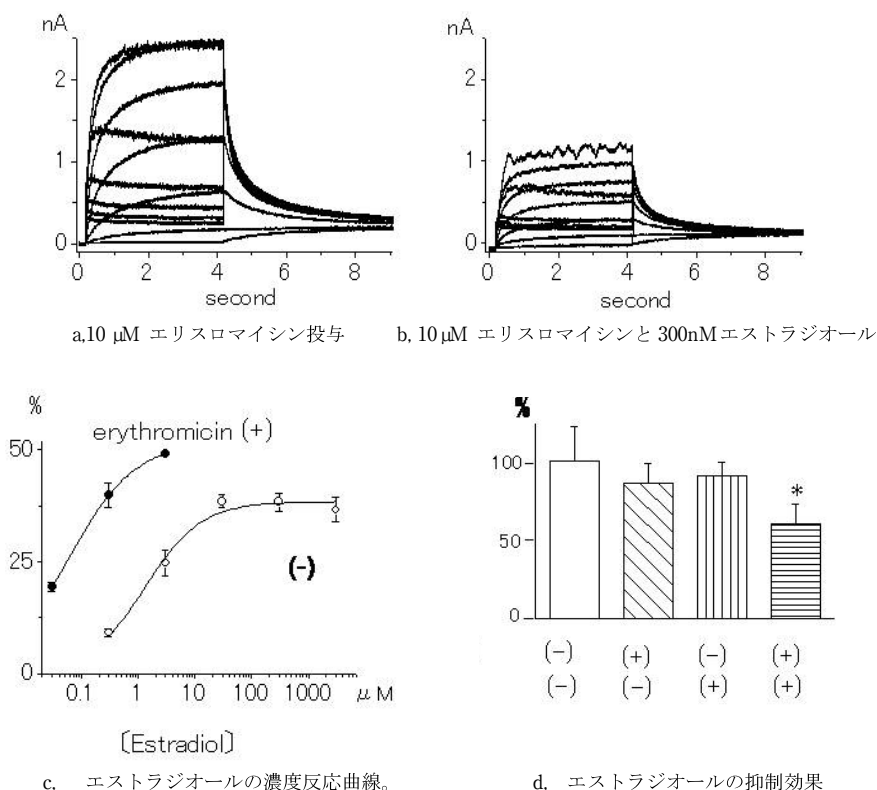


図5 エリスロマイシンとエストラジオールの同時投与

a, hERG 電流記録。10 μM エリスロマイシン投与。b, 10 μM エリスロマイシンと300 nM エストラジオール同時投与後。c, エストラジオールの濃度反応曲線。エリスロマイシン(-)、(+)の場合。IC₅₀はエリスロマイシン無の場合は1.3 μM 、10 μM エリスロマイシン存在下では59 nMであった。d, エストラジオールの抑制効果の比較。エリスロマイシン併用(+)、非併用(-)。両者の同時投与の時に有意な抑制を認めた。

hERG 電流に影響を与えないが、両者を同時に投与すると著明に抑制効果を発揮することから、これらは相乗効果であると結論できた。

「考察及び結論」

我々は今回の研究によりエストラジオールは hERG 電流をブロックし、且つこの抑制効果はエリスロマイシンの同時投与により増強されることを世界で初めて示すことが出来た。

エストラジオールの hERG 電流抑制効果に関して

性ホルモンは心血管系においてシグナル伝達系を調節していることが知られている^(4, 6, 33)。

しかし心臓においては電気生理学的特性から性ホルモンが直接膜電流に作用していると推測されていたにもかかわらず、その詳細なメカニズムに関しては良く理解されていなかった^(32, 34, 35)。以前の報告によるとテストステロンは I_{Ks} と I_{CaL} に作用して QTc 間隔に影響をあたえているとされているが⁽³⁶⁾、性ホルモンによる hERG 電流への作用に関してはこれまではそれを示唆する報告はあるものの十分に検討されていない^(4, 36)。本研究で我々は hERG 電流がエストラジオールにより直接抑制されることを初めて証明し、且つエリスロマイシンと相乗効果により抑制が増強されることを明らかにした⁽²⁶⁾。

エストラジオールによる薬剤効果の修飾

hERG 電流は今回検討した抗生物質のみならず、その他抗不整脈薬（クラス IA, IC, II）、多種類の抗生物質、抗真菌薬などの多くの薬剤により抑制されることが良く知られているが、薬剤による I_{Kr} ブロック効果が性ホルモンなどによってどのように修飾されているのかは不明であった^(31, 37)。エリスロマイシンは広く処方される抗生物質であり、しかも QT を延長し TDP 等の不整脈の原因となっていることや、抗不整脈薬との併用は特に女性にとっては致死性不整脈の原因になることも知られている^(6, 38)。今回の我々研究によりエリスロマイシンがなぜ女性にとって致死性不整脈のリスクを高めているのかその原因・機序を解明することができた。 I_{Kr} をブロックする薬剤は臨床的に広く使用されており、女性に処方する場合には細心の注意が必要であること、そして薬剤の副作用をイオンチャンネルの分子・遺伝子レベルで理解することは非常に重要であると考ええる。

謝辞

本研究に協力していただきました東京医科歯科大学・安藤史顕医師（現東京都立多摩総合医療センター内科）、日本医科大学・来馬明規博士（現高岩寺住職）に深謝いたします。

引用文献

1. Birmingham K. (2002) Review Insight the heart Nature 415 : 198-243
2. Sanguinetti M. C., Tristani-Firouzi M. (2006) hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. Nature 440 : 463-469
3. James A. F., Choisy S. C. M., Hancox J. C. (2007) Review Recent advances in understanding sex differences in cardiac repolarization. Progress in Biophysics and Molecular Biology 94 : 265-319
4. Vitale C., Mendelsohn M. E. G. M. C. Rosano (2009) Gender differences in the cardiovascular effect of sex hormones. Nature Reviews Cardiology 6 : 532-542,
5. X. J. Du, Fang L., Kiriazis H. (2006) Sex dimorphism in cardiac pathophysiology : Experimental findings : hormonal mechanisms, and molecular mechanisms. Pharmacology & Therapeutics 111 : 434-475
6. Pham T. V., Rosen M. R. (2002) Review Sex, hormones, and repolarization. Cardiovascular Research : 53 740-751
7. Hashiba K., (1978) Hereditary QT prolongation syndrome in Japan : Genetic analysis and pathological findings of the conducting system. Japanese Circulation Society 42 : 1133-1150,
8. Roden D. M., (2004) Drug-Induced Prolongation of the QT Interval. N Engl J Med ; 350 : 1013-22.
9. Finlayson K., Witchelb H. J., McCullocha J., Sharkey J. (2004) Review Acquired QT interval prolongation and HERG : implications for drug discovery and development. European Journal of Pharmacology 500 : 129-142
10. Bazett, H., (1920) An analysis of time-relations of electrocardiograms. Heart 7 : 353-370.
11. Brockbank, C., Chatterjee, F., Bruce, S., Woledge, R. (2000) Heart rate and its variability change after the menopause. Exp. Physiol. 85 : 327-330.
12. Hirshoren, N., Tzoran, I., Makrienko, I., et al., (2002). Menstrual cycle effects on the neurohumoral and autonomic nervous systems regulating the cardiovascular system. J.

- Clin. Endocrinol. Metab. 87 : 1569-1575.
13. Huikuri, H. V., Pikkujamsa, S. M., Airaksinen, K. E. J., et al. (1996). Sex-related differences in autonomic modulation of heart rate in middle-aged subjects. *Circulation* 94 : 122-125.
 14. Tanaka, M., Sato, M., Umehara, S., Nishikawa, T., (2003) Influence of menstrual cycle on baroreflex control of heart rate : comparison with male volunteers. *Am. J. Physiol.* 285 : R1091-R1097.
 15. Smetana, P., Batchvarov, V. N., Hnatkova, K., Camm, A. J., Malik, M., (2002) Sex differences in repolarization homogeneity and its circadian pattern. *Am. J. Physiol.* 282 : H1889-H1897.
 16. Smetana, P., Batchvarov, V., Hnatkova, K., John Camm, A., Malik, M., (2003). Sex differences in the rate dependence of the T wave descending limb. *Cardiovasc. Res.* 58 : 549-554.
 17. Nakagawa, M., Takahashi, N., Watanabe, M., Ichinose, M., et al, (2003) Gender differences in ventricular repolarization : terminal T wave interval was shorter in women than in men. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 26 : 59-64.
 18. McCammon, R. W., (1961). A longitudinal study on electrocardiographic intervals in normal infants and children. *Acta Paediatr.* 50 : 3-54.
 19. Rautaharju, P. M., Zhou, S. H., Wong, S., Calhoun, H. P., et al, (1992) Sex differences in the evolution of the electrocardiographic QT interval with age. *Can. J. Cardiol.* 8 : 690-695.
 20. Bidoggia, H., Maciel, J. P., Capalozza, N., Mosca, S., Blaksley, E. J., Valverde, E., Bertran, G., Arini, P., Biagetti, M. O., Quinteiro, R. A., 2000. Sex differences on the electrocardiographic pattern of cardiac repolarization : possible role of testosterone. *Am. Heart J.* 140, 678-683.
 21. Trepanier-Boulay, V., St-Michel, C., Tremblay, A., Fiset, C., 2001. Gender-based differences in cardiac repolarization in mouse ventricle. *Circ. Res.* 89, 437-444.
 22. Brouillette, J., Rivard, K., Lizotte, E., Fiset, C., (2004) Sex and strain differences in adult mouse cardiac repolarization : importance of androgens. *Cardiovasc. Res.* 65 : 148-157.
 23. Du XJ, Fang L., Kiriazis H. (2006) Sex dimorphism in cardiac pathophysiology : Experimental findings, hormonal mechanisms, and molecular mechanisms. *Pharmacology & Therapeutics* 111 : 2 434-475
 24. Mendelsohn ME, Karas RH. (2005) Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science.* 308 (5728) : 1583-1587.
 25. Hiramatsu M. Kawano S. et al, (2004) Block of HERG current expressed in HEK293 cells by the Na⁺ channel blocker cibenzoline. *Heart Vessels* 19 : 137-143
 26. Ando F. Kuruma A. Kawano S. (2011) Synergic Effects of b-estradiol and erythromycin on hERG currents. *J Membrane Biol* 241 : 31-38
 27. L. M. Wu, M. Orikabe, Y. Hirano, S. Kawano, Hiraoka M. (2003) Effects of Na⁺ channel blocker, pilsicainide, on HERG current expressed in HEK-293 cells. *Journal of Cardiovasc Pharmacology.* 42 : 410-418.
 28. T. Sasano, S. Kawano, et. al., (2004) Novel

- C-terminus frame shift mutation, 1122fs/147, of HERG in LQT2 : additional amino acids generated by frameshift cause accelerated inactivation. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 37 : 1205-1211
29. Finlayson K., Witchelb H. J., McCullocha J., Sharkeya J. (2004) Acquired QT interval prolongation and HERG : implications for drug discovery and development. *European Journal of Pharmacology* 500 : 129-142
 30. C. Antzelevitch, Z. Q. Sun, Z. Q. Zhang, G. X. Yan, (1996) Cellular and ionic mechanisms underlying erythromycin-induced long QT intervals and tirade de pointes. *J Am Coll Cardiol* 28 : 1836-1848
 31. Volberg WA, Koci BJ, Su W et al (2002) Blockade of human cardiac potassium channel human ether-a-go-go-related gene (hERG) by macrolide antibiotics. *J Pharmacol Exp Ther* 302 : 320-327
 32. Coker S. (2008) Drugs for men and women-how important is gender as a risk factor for TdP? *Pharmacol Ther* 119 : 186-194
 33. Du XJ, Fang L, Kiriazis H (2006) Sex dimorphism in cardiac pathophysiology : experimental findings, hormonal mechanisms, and molecular mechanisms. *Pharmacol Ther* 111 : 434-475
 34. Makkar RR, Fromm BS, Steinman RT et al (1993) Female gender as a risk factor for torsades de pointes associated with cardiovascular drugs. *JAMA* 270 : 2590-2597
 35. James AF, Choisy SCM, Hancox JC (2007) Recent advances in understanding sex differences in cardiac repolarization. *Prog Biophys Mol Biol* 94 : 265-319
 36. Bai CX, Kurokawa J, Tamagawa M et al (2005) Nontranscriptional regulation of cardiac repolarization currents by testosterone. *Circulation* 112 : 1701-1710
 37. Abriel H, Schlapfera J, Keller DI et al (2004) Molecular and clinical determinants of drug-induced long QT syndrome : an iatrogenic channelopathy. *Swiss Med Wkly* 134 : 685-694
 38. Hancox JC, McPate MJ, Harchi AE et al (2008) The hERG potassium channel and hERG screening for drug-induced torsades de pointes. *Pharmacol Ther* 119 : 118-132